Aptima HPV 16 18/45 Test de génotypage

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Tigris™ DTS™ System

Panther™ System

Informations générales – Tigris DTS System et Panther System

Usage prévu

Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay est un test *in vitro* d'amplification de l'acide nucléique pour la détection quanlitative du RNA messager (mRNA) viral E6/E7 des types 16, 18, et 45 du Human Papillomavirus à haut risque (High-Risk HPV) dans les échantillons cervicaux de femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay. Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay peut différencier le HPV 16 du HPV 18 et/ou 45, mais ne différencie pas le HPV 18 du HPV 45. Les échantillons cervicaux prélevés dans des flacons ThinPrep™ Pap Test contenant de la solution PreservCyt™ peuvent être testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, tout comme les échantillons cervicaux prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical Aptima. Le test est utilisé avec le Tigris DTS System et le Panther System.

L'utilisation du test est indiquée dans les cas suivants :

1. Chez les femmes âgées de 21 ans et plus avec un résultat de cytologie cervicale « Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance » (ASC-US), le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay peut être utilisé pour tester les échantillons de femmes ayant des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay, afin d'évaluer la présence ou l'absence des génotypes High-Risk HPV 16, 18 et/ou 45. Conjointement à l'évaluation des antécédents cytologiques par le médecin, aux autres facteurs de risque et aux directives professionnelles, ces informations peuvent être utilisées pour guider la prise en charge de la patiente. Les résultats de ce test ne doivent pas empêcher aux femmes de procéder à la colposcopie.
2. Chez les femmes âgées de 30 ans et plus, le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay peut être utilisé pour tester les échantillons de femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay. Les résultats du test seront utilisés avec les résultats de cytologie cervicale pour évaluer la présence ou l'absence des génotypes High-Risk HPV 16, 18 et/ou 45. Conjointement à l'évaluation des antécédents cytologiques par le médecin, aux autres facteurs de risque et aux directives professionnelles, ces informations peuvent être utilisées pour guider la prise en charge de la patiente.

Résumé et explication du test

Le cancer du col de l'utérus représente à l'échelle mondiale l'un des cancers féminins les plus courants. Le HPV est l'agent étiologique responsable de plus de 99 % de l'ensemble des cancers du col de l'utérus.[1,2,3] Le HPV est un virus à DNA couramment transmis par voie sexuelle et comportant plus de 100 génotypes.[4]

Le génome viral du HPV est un DNA circulaire à double brin long d'environ 7 900 paires de base. Ce génome présente huit cadres de lecture ouverts (open reading frames) qui se chevauchent. On dénombre six gènes précoces (E), deux gènes tardifs (L) et une longue région de contrôle non transcrite. Les protéines majeure et mineure de la capside sont codées par les gènes L1 et L2. Les gènes précoces régulent la réplication du virus HPV. Les gènes E6 et E7 des génotypes High-Risk HPV sont des oncogènes connus. Les protéines exprimées par le mRNA polycistronique E6/E7 altèrent les fonctions de la protéine du rétinoblastome et de la p53 cellulaire, ce qui entraîne une perturbation des points de contrôle du cycle cellulaire et une instabilité du génome cellulaire.[5,6]

Quatorze génotypes de HPV sont considérés comme pathogènes ou à haut risque de progression de la pathologie cervicale.[7] Plusieurs études ont associé les génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 à la progression de la maladie.[2,5,8] Les femmes qui presentent une infection persistante par l'un de ces types ont un risque plus élevé de développement d'une dysplasie sévère ou de carcinome du col de l'utérus.[7,9]

Les études ont montré que les différents types de High-Risk HPV confèrent différents taux de risque de développement d'une dysplasie sévère ou de carcinome du col de l'utérus. À l'échelle mondiale, les types 16, 18 et 45 du HPV sont associés à 80 % environ de tous les cancers invasifs du col de l'utérus. Ces trois types sont détectés dans 75 % des carcinomes squameux, le type 16 à lui seul étant détecté dans plus de 60 % de tous les carcinomes squameux. Dans l'adenocarcinoma, les types de HPV 16, 18 et 45 sont détectés dans 80 à 94 % des cas, les types 18 et 45 représentant près de la moitié de ces infections.[2,10] La présence du type de HPV 18 au stade précoce du cancer du col de l'utérus a été associé à un mauvais pronostic.[11] Les types de HPV 18 et 45 sont sous-détectés dans les lésions précancéreuses, ce qui peut être le résultat de lésions occultes du canal cervical qui sont inaccessibles lors de la colposcopie.[12] Chez les femmes infectées par le HPV de type 16 et/ou 18, le risque cumulatif de développer une pathologie cervicale est 10 fois supérieur au risque de développer une pathologie associée aux autres types à haut risque.[13,14,15]

Principes de la procédure

Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay implique trois étapes principales, qui se déroulent dans un tube unique : capture de cible, amplification de la cible médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA),[16] et détection des produits d'amplification (amplicons) par test de protection de l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA).[17] Le test incorpore un contrôle interne (Internal Control, IC) pour vérifier les étapes de capture de l'acide nucléique, d'amplification et de détection et pour repérer d'éventuelles erreurs de l'opérateur ou de l'appareil.

Les échantillons sont prélevés ou transférés dans un tube contenant un milieu pour transport d'échantillon (Specimen Transport Media, STM) qui lyse les cellules, libère le mRNA et l'empêche de se dégrader pendant la conservation. Quand le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay est effectué, le mRNA cible est isolé de l'échantillon au moyen d'oligomères de capture qui sont liés à des microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent les séquences complémentaires à des régions précises des molécules cibles du mRNA du HPV ainsi qu'une chaîne de résidus de déoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se fixent sur des régions précises des molécules cibles du mRNA du HPV. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution en réduisant la température de la réaction à la température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules (poly)désoxythymidines liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cibles du mRNA du HPV capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi du tube réactionnel par des aimants, puis le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon, qui peut contenir des inhibiteurs d'amplification.

Une fois la capture de cible terminée, le mRNA du HPV est amplifié via la TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique basée sur la transcription qui utilise deux enzymes : la transcriptase inverse MMLV et la RNA polymérase T7. La transcriptase inverse sert à générer une copie du DNA de la séquence de mRNA cible contenant une séquence promoteur de RNA polymérase T7. La RNA polymérase T7 produit de multiples copies de l'amplicon du RNA à partir de la matrice de copie du DNA.

La détection de l'amplicon s'effectue au moyen du test HPA avec des sondes d'acide nucléique simple brin à marqueurs chimiluminescents qui sont complémentaires de l'amplicon. Les sondes d'acide nucléique marquées s'hybrident spécifiquement à l'amplicon. Le réactif de sélection différencie les sondes hybridées de celles qui ne le sont pas en désactivant le marqueur sur les sondes non hybridées. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA-DNA à marqueurs est mesurée à l'aide d'un luminomètre, en tant que signaux de photons appelés Unités relatives de lumière (Relative Light Units, RLU). Les résultats finaux du test sont interprétés en fonction du rapport du signal divisé par le seuil (signal-to-cutoff, S/CO) de l'analyte.

Un IC est ajouté à chaque réaction grâce au réactif de capture de cible. Le IC surveille les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Le double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA) est la méthode utilisée pour différencier les signaux du HPV des signaux du IC.[18] L'amplicon du IC et du HPV 16 sont détectés à l'aide de sondes dont les cinétiques d'émission de lumière sont rapides (signal éclair). Le signal IC pour chaque réaction est distingué du signal HPV 16 par l'ampleur de l'émission de lumière. Les amplicons spécifiques du HPV 18 et 45 sont détectés à l'aide de sondes dont les cinétiques d'émission de lumière sont relativement plus longues (signal brillant).

Avertissements et précautions

A. Pour diagnostic *in vitro*.

B. Pour d'autres avertissements et précautions spécifiques concernant l'appareil, consultez le *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) ou le *Panther System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Panther System).

Recommandations concernant les laboratoires

C. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.

D. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Il est interdit de manger, de boire ou de fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.

E. **Avertissement : Substances irritantes et corrosives :** Évitez tout contact d'Auto Detect 1 et Auto Detect 2 avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, lavez la zone affectée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluer le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.

F. Les plans de travail, pipettes et autre matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Consultez *Procédure de test pour le Tigris DTS System* ou *Procédure de test pour le Panther System* pour de plus amples informations.

Recommandations concernant les échantillons

G. Maintenez des conditions de température adéquates pendant le transport et la conservation des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons n'a pas été évaluée dans des conditions de transport autres que celles recommandées.

H. Les dates de péremption figurant sur les kits et les tubes de collecte/transfert d'échantillon s'adressent au site de transfert, et non à l'établissement effectuant les tests. Les échantillons prélevés/transférés avant ces dates de péremption sont valides pour des tests dans la mesure où ils ont été transportés et conservés conformément à la notice du test correspondante, même si ces dates de péremption sont dépassées depuis lors.

I. Les échantillons peuvent être infectieux. Respectez les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devra être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.

J. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.

K. Dans certaines conditions, du liquide peut s'écouler des bouchons des tubes lorsqu'ils sont percés. Consultez *Procédure de test pour le Tigris DTS System* ou *Procédure de test pour le Panther System* pour de plus amples informations.

L. Les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et ceux prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) doivent être rejetés si un dispositif de collecte est resté dans le tube d'échantillon.

Recommandations concernant les tests

M. Conservez les réactifs aux températures indiquées. Les résultats du test peuvent être affectés par l'utilisation de réactifs mal conservés.

N. Évitez de contaminer les réactifs par des microbes ou des ribonucléases.

O. N'utilisez pas ce kit après la date de péremption.

P. N'échangez pas, ne mélangez pas et ne combinez pas les réactifs de test ou les calibrateurs provenant de kits portant différents numéros de lots.

Q. Les liquides Aptima Assay, les réactifs Aptima Auto Detect et le conservateur de liquide système Aptima (Tigris DTS System uniquement) ne font pas partie du lot de référence ; n'importe quel lot peut être utilisé.

R. Il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs de test pour obtenir des résultats précis.

S. Des embouts de pipette à filtre hydrophobe doivent être utilisés.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

N'utilisez pas les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur les flacons. Voir ci-dessous pour des directives de conservation supplémentaires.

A. Les réactifs suivants se conservent entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) dès leur réception :

Réactif d'amplification du HPV 16 18/45

Réactif enzymatique du HPV 16 18/45

Réactif-sonde du HPV 16 18/45

Réactif de contrôle interne du HPV 16 18/45

Calibrateurs positifs HPV 16 18/45 et calibrateurs négatifs HPV 16 18/45

B. Les réactifs suivants se conservent entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :

Solution de reconstitution pour amplification du HPV 16 18/45

Solution de reconstitution enzymatique du HPV 16 18/45

Solution de reconstitution de sonde du HPV 16 18/45

Réactif de capture de cible du HPV 16 18/45

Réactif de sélection du HPV 16 18/45

Solution de lavage

Réactif huileux

Tampon pour solution de désactivation

Réactif Auto Detect 1

Réactif Auto Detect 2

Aptima System Fluid Preservative (Tigris DTS System uniquement)

C. Après reconstitution, les réactifs suivants restent stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C :

Réactif d'amplification du HPV 16 18/45

Réactif enzymatique du HPV 16 18/45

Réactif-sonde du HPV 16 18/45

D. La solution de réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) reste stable pendant 30 jours lorsqu'elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne réfrigérez pas.

E. Jetez tous les réactifs reconstitués et le wTCR non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première échéance prévalant.

F. Les réactifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay restent stables pendant 48 heures cumulées lorsqu'ils sont conservés intégrés au Tigris DTS System.

G. Les réactifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay restent stables pendant 72 heures cumulées lorsqu'ils sont conservés intégrés au Panther System.

H. Le réactif-sonde et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conservez les réactifs à l'abri de la lumière.

I. Ne congelez pas les réactifs.

Collecte et conservation des échantillons

A. Collecte et traitement des échantillons

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

1. Prélevez les échantillons cervicaux dans des flacons ThinPrep pour test de Pap contenant de la solution PreservCyt avec des dispositifs de type balai ou cytobrosse/spatule, conformément aux directives du fabricant.
2. Avant ou après le traitement cytologique avec le ThinPrep 2000 System ou le ThinPrep 3000 System, transférez 1 ml de l'échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep dans un tube de transfert d'échantillons Aptima, conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.

Échantillons prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical Aptima

Prélevez l'échantillon conformément au mode d'emploi du kit CSCT Aptima.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

1. Transportez les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep entre 2 °C et 30 °C.
2. Les échantillons doivent être transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima dans les 105 jours suivant le prélèvement.
3. Avant le transfert, les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep doivent être conservés entre 2 °C et 30 °C, sans dépasser 30 jours à des températures de plus de 8 °C.
4. Les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima peuvent être conservés entre 2 °C et 30 °C pendant 60 jours maximum.
5. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep, ou les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep dilués dans le tube de

transfert d'échantillon Aptima, peuvent être conservés à une température de -20 °C à -70 °C, pendant 24 mois maximum.

Échantillons prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical Aptima

1. Transportez et conservez les échantillons entre 2 °C et 30 °C pendant 60 jours maximum.
2. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, les échantillons du kit de transport peuvent être conservés entre -20 °C et -70 °C, pendant 24 mois maximum.

C. Conservation des échantillons après les tests :

1. Les échantillons qui ont été testés doivent être conservés dans un portoir en position verticale.
2. Les tubes d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de plastique ou d'aluminium propre.
3. Si des échantillons testés doivent être congelés ou transportés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes d'échantillons. Si les échantillons doivent être transportés dans un autre établissement pour y être testés, les températures spécifiées doivent être maintenues. Avant de déboucher des échantillons précédemment testés et rebouchés, les tubes d'échantillon doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube.

Remarque : *Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales applicables en matière de transport.*

Tigris DTS System

Réactifs et matériels fournis

Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.

Kit de test de génotypage Aptima HPV 16 18/45, 100 tests, n° de réf. 303234 (3 boîtes)

Les calibrateurs peuvent être achetés séparément. Consultez le numéro de référence spécifique de la boîte ci-dessous.

Boîte réfrigérée Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification du HPV 16 18/45** *Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique du HPV 16 18/45** *Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de réactif diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde du HPV 16 18/45** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses (< 500 ng/flacon) déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
IC	**Réactif de contrôle interne du HPV 16 18/45** *Transcrit de RNA non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon

Boîte à température ambiante Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay
(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution pour amplification du HPV 16 18/45** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 flacon
ER	**Solution de reconstitution enzymatique du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 flacon
PR	**Solution de reconstitution de sonde du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
S	**Réactif de sélection du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.*	1 flacon
TCR	**Réactif de capture de cible du HPV 16 18/45** *Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant une phase solide (< 0,5 mg/ml).*	1 flacon
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres du lot de référence	1 fiche

Boîte de calibrateurs Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (n° de réf. 303235) (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception) *(suite)*

Symbole	Composant	Quantité
PCAL1	**Calibrateur positif 1 HPV 16 18/45** *Transcrit in vitro de HPV 18 non infectieux à 750 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons
PCAL2	**Calibrateur positif 2 HPV 16 18/45** *Transcrit in vitro de HPV 16 non infectieux à 1 000 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons
NCAL	**Calibrateur négatif HPV 16 18/45** *Solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.*

	N° de réf.
Tigris DTS System	105118
Kit pour séries Tigris DTS System	301191
Unités multi-tube (Multi-tube Units, MTU)	*104772-02*
Sac pour embouts MTU usagés	*900907*
Déflecteur de déchets pour MTU	*900931*
Couvre-déchets pour MTU	*105523*
Kit de liquides Aptima Assay *(Solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et réactif huileux Aptima)*	302382
Kit Aptima Auto Detect	301048
Kit Aptima System Fluid Preservative	302380
Embouts, 1 000 µl conductifs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Kit de collecte et de transport pour échantillon cervical Aptima	302657
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour coffrets de 100 tests :	
Solutions de reconstitution pour réactif d'amplification et réactif-sonde	*CL0041*
Solution de reconstitution pour réactif enzymatique	*CL0041*
TCR et solution de reconstitution de sélection	*501604*
Eau de javel (solution d'hypochlorite de sodium à 5 % ou 0,7 M minimum)	—
Eau pour le Tigris DTS System *Consultez le Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) pour les spécifications.*	—
Gants jetables	—

Matériel optionnel

	N° de réf.
Optimiseur d'eau de javel pour nettoyage	302101

Procédure de test pour le Tigris DTS System

Remarque : *Consultez le Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.*

A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyez les plans de travail et les pipeteurs avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins 1 minute avant de rincer à l'eau. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de laboratoire absorbantes propres à envers plastifié.

B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Tigris DTS System.*

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combinez les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez parvenir à température ambiante avant de les utiliser.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des couleurs d'étiquettes correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont appariés.
   c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 1, étape 1).
   d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
   e. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 1, étape 2).
   f. Retournez délicatement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (Figure 1, étape 3).
   g. Faites tournoyer en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez la formation de mousse en tournoyant le flacon (Figure 1, étape 4).
   h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
   i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, étape 6).
   j. Rebouchez le flacon. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, étape 7).
   k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, étape 8).

Avertissement : *Évitez la formation de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Tigris DTS System.*

Remarque : *Mélangez soigneusement le réactif d'amplification, le réactif enzymatique, le réactif-sonde et le réactif de sélection en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

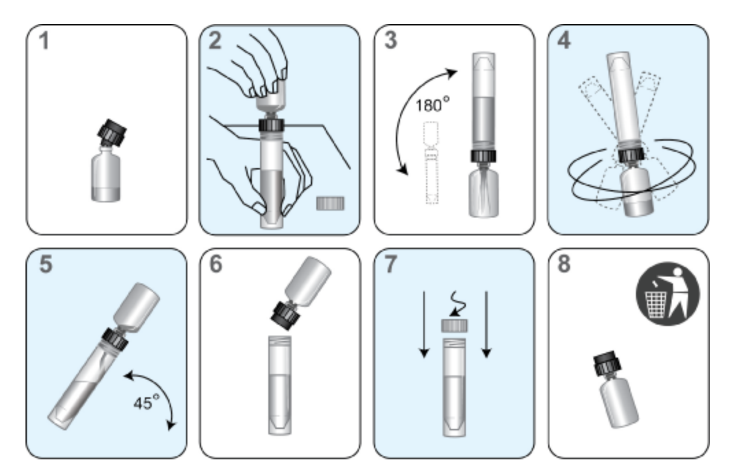


Figure 1. Processus de reconstitution du Tigris DTS System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) :
   a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont appariés.
   c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
   d. Ouvrez le flacon de IC et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de IC.
   e. Rebouchez le flacon de TCR et faites tournoyer en douceur la solution pour mélanger le contenu. Évitez la formation de mousse pendant cette étape.
   f. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
   g. Jetez le flacon de IC et son bouchon.
   h. Un précipité peut se former dans le wTCR et produire des résultats non valides dus à des erreurs de vérifications du volume. Il est possible de dissoudre le précipité en chauffant le wTCR entre 42 °C et 60 °C jusqu'à 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
3. Préparation du réactif de sélection
   a. Vérifiez le numéro de lot du réactif sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer qu'il appartient au kit.
   b. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

***Remarque :** Mélangez bien les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs précédemment reconstitués
   1. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
   2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffez-le à 60 °C maximum pendant 1 à 2 minutes. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

3. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
4. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
5. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
6. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le Tigris DTS System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les échantillons (calibrateurs, échantillons et tout échantillon externe de contrôle de qualité fourni par l'utilisateur) parvenir à température ambiante avant de les traiter.
2. **Ne mélangez pas les échantillons au vortex**.
3. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger dans les portoirs. Si un tube d'échantillon présente des bulles ou un volume inférieur à celui généralement observé, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurer qu'il n'y a pas de liquide dans le bouchon.

Remarque : *Le non-respect de l'étape 3 peut entraîner un écoulement de liquide depuis le bouchon du tube d'échantillon.*

E. Préparation du système

Configurez le système et la liste de travail conformément aux instructions du *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) et à la section *Remarques concernant la procédure* ci-dessous. Vérifiez que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

1. Chaque liste de travail doit contenir 2 réplicats du calibrateur négatif et de chaque calibrateur positif. Pour fonctionner correctement avec le logiciel Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, le calibrateur négatif doit se trouver dans le tube de la première position du premier portoir de la liste de travail, le calibrateur positif 1 dans le tube de la seconde position du premier portoir de la liste de travail, et le calibrateur positif 2 dans le tube de la troisième position du premier portoir de la liste de travail.
2. Toute tentative de pipeter plus de deux réplicats d'un tube de calibrateur peut entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.
3. Les calibrateurs doivent être utilisé avec le lot de référence de réactifs correspondant. L'opérateur doit vérifier que le lot correct de calibrateurs est utilisé avec le lot de référence correspondant des kits de réactifs, tel que cela est indiqué sur la fiche des codes à barres du lot de référence. Le numéro de lot approprié doit être indiqué lors de la commande de calibrateurs supplémentaires.

B. Température

La température ambiante est définie comme étant comprise entre 15 °C et 30 °C.

C. Gants poudrés

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

Panther System

Réactifs et matériels fournis

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 tests, n° de réf. 303236 (3 boîtes)

Les calibrateurs peuvent être achetés séparément. Consultez le numéro de référence spécifique de la boîte ci-dessous.

Boîte réfrigérée Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification du HPV 16 18/45** *Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique du HPV 16 18/45** *Transcriptase inverse et polymérase du RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de réactif diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde du HPV 16 18/45** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses (< 500 ng/ flacon) déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
IC	**Réactif de contrôle interne du HPV 16 18/45** *Transcrit de RNA non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon

Boîte à température ambiante Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay
(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution pour amplification du HPV 16 18/45** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 flacon
ER	**Solution de reconstitution enzymatique du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 flacon
PR	**Solution de reconstitution de sonde du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
S	**Réactif de sélection du HPV 16 18/45** *Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.*	1 flacon

Boîte à température ambiante Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception) ***(suite)***

Symbole	Composant	Quantité
TCR	**Réactif de capture de cible du HPV 16 18/45** *Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant une phase solide (< 0,5 mg/ml).*	1 flacon
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres du lot de référence	1 fiche

Boîte de calibrateurs Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (n° de réf. 303235) (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL1	**Calibrateur positif 1 HPV 16 18/45** *Transcrit in vitro de HPV 18 non infectieux à 750 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons
PCAL2	**Calibrateur positif 2 HPV 16 18/45** *Transcrit in vitro de HPV 16 non infectieux à 1 000 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons
NCAL	**Calibrateur négatif HPV 16 18/45** *Solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	5 flacons

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.*

	N° de réf.
Panther System	303095
Kit pour séries Panther System	303096
Kit de liquides Aptima Assay	*303014*
(Solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et réactif huileux Aptima)	
Kit Aptima Auto Detect	*303013*
Unités multi-tube ((Multi-tube Units, MTU)	*104772-02*
Assortiment de sacs pour déchets Panther	*902731*
Couvre-déchets Panther	*902714*
Embouts, 1 000 µl conductifs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour coffrets de 100 tests :	
Solutions de reconstitution pour réactif d'amplification et réactif-sonde	*CL0041*
Solution de reconstitution pour réactif enzymatique	*CL0041*
TCR et réactif de sélection	*501604*
Eau de javel (solution d'hypochlorite de sodium à 5 % ou 0,7 M minimum)	—
Gants jetables	—

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : *Consultez le Panther System Operator’s Manual (Manuel de l’opérateur du Panther System) pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.*

A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyez les plans de travail et les pipeteurs avec une solution d’hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d’hypochlorite de sodium au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins 1 minute avant de rincer à l’eau. Ne laissez pas sécher la solution d’hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de laboratoire absorbantes propres à envers plastifié.

B. Préparation des réactifs d’un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d’entreprendre toute tâche sur le Panther System.*

1. Afin de reconstituer le réactif d’amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combinez les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez parvenir à température ambiante avant de les utiliser.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des couleurs d’étiquettes correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont appariés.
   c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l’extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l’ouverture du flacon (Figure 2, étape 1).
   d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
   e. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l’autre extrémité du collet de reconstitution dans l’ouverture du flacon (Figure 2, étape 2).
   f. Retournez délicatement les flacons assemblés. Laissez la solution s’écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (Figure 2, étape 3).
   g. Faites tournoyer en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez la formation de mousse en tournoyant le flacon (Figure 2, étape 4).
   h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
   i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, étape 6).
   j. Rebouchez le flacon. Enregistrez les initiales de l’opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l’étiquette (Figure 2, étape 7).
   k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 2, étape 8).

Avertissement : *Évitez la formation de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.*

Remarque : *Mélangez soigneusement le réactif d’amplification, le réactif enzymatique, le réactif-sonde et le réactif de sélection en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

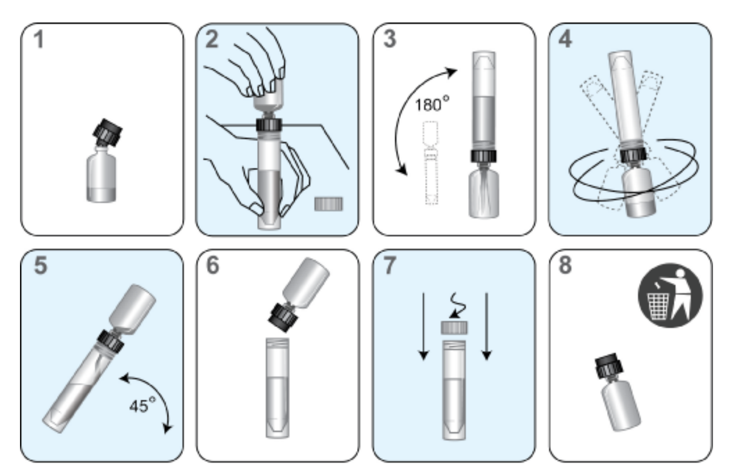


Figure 2. Processus de reconstitution du Panther System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) :
   a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit sont appariés.
   c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
   d. Ouvrez le flacon de IC et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de IC.
   e. Rebouchez le flacon de TCR et faites tournoyer en douceur la solution pour mélanger le contenu. Évitez la formation de mousse pendant cette étape.
   f. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
   g. Jetez le flacon de IC et son bouchon.
   h. Un précipité peut se former dans le wTCR et produire des résultats non valides dus à des erreurs de vérifications du volume. Il est possible de dissoudre le précipité en chauffant le wTCR entre 42 °C et 60 °C jusqu'à 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
3. Préparation du réactif de sélection
   a. Vérifiez le numéro de lot du réactif sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer qu'il appartient au kit.
   b. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

Remarque : *Mélangez bien les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs précédemment reconstitués
   1. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
   2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffez-le à 60 °C maximum pendant 1 à 2 minutes. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

3. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
4. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
5. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
6. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le Panther System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les échantillons (calibrateurs, échantillons et tout échantillon externe de contrôle de qualité fourni par l'utilisateur) parvenir à température ambiante avant de les traiter.
2. **Ne mélangez pas les échantillons au vortex.**
3. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir. Si un tube d'échantillon présente des bulles ou un volume inférieur à celui généralement observé, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurer qu'il n'y a pas de liquide dans le bouchon.

Remarque : *Le non-respect de l'étape 3 peut entraîner un écoulement de liquide depuis le bouchon du tube d'échantillon.*

E. Préparation du système

Configurez le système conformément aux instructions du *Panther System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Panther System) et à la section *Remarques concernant la procédure* ci-dessous. Vérifiez que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

1. Pour travailler correctement avec le logiciel Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System, deux réplicats du calibrateur négatif et de chaque calibrateur positif sont nécessaires. Un flacon de chaque calibrateur peut être chargé dans une position de portoir quelconque d'une rangée du compartiment des échantillons du Panther System. Le pipetage des échantillons commence quand l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
   a. Les calibrateurs positifs et négatifs sont en cours de traitement par le Panther System.
   b. Des résultats valides pour les calibrateurs sont enregistrés dans le Panther System.
2. Une fois que les tubes de calibrateur ont été pipetés et qu'ils sont en cours de traitement pour un kit de réactifs spécifique, il est possible de traiter les échantillons avec le kit de réactifs du test associé pendant 24 heures maximum, sauf si :
   a. Les calibrateurs sont non valides.
   b. Le kit de réactifs du test associé est retiré du Panther System.
   c. Le kit de réactifs du test associé a dépassé ses limites de stabilité.
3. Toute tentative de pipeter plus de deux réplicats d'un tube de calibrateur peut entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

B. Température

La température ambiante est définie comme étant comprise entre 15 °C et 30 °C.

C. Gants poudrés

Comme avec tout système de réactif, l’excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d’utiliser des gants sans poudre.

Procédures de contrôle de qualité – Tigris DTS System et Panther System

A. Critères de validité de la série

Le logiciel détermine automatiquement la validité de la série. Le logiciel invalidera une série si l'une des conditions suivantes se produit :

- Plus d'un réplicat non valide du calibrateur négatif.
- Plus d'un réplicat non valide du calibrateur positif 1.
- Plus d'un réplicat non valide du calibrateur positif 2.
- Plus de 1 sur 6 réplicats non valides du calibrateur combinés.

Une série peut être invalidée par un opérateur si des difficultés techniques, de l'opérateur ou de l'appareil sont observées et documentées pendant la réalisation du test.

Toute série non valide doit être répétée. Toute série annulée doit être répétée.

***Remarque :** L'obtention de résultats non valides avec les calibrateurs négatifs, les calibrateurs positifs et/ou le contrôle interne peut indiquer un échec des réactifs et une contamination du système significatifs. Suivez les directives de la section Interprétation du test – Tigris DTS System et Panther System pour retester les résultats non valides.*

***Remarque :** Les échantillons de contrôle de qualité externe (non fournis) doivent être testé conformément aux réglementations locales, d'état et/ou fédérales ainsi qu'aux exigences d'homologation et aux protocoles validés de contrôle de qualité de chaque laboratoire.*

Les échantillons de contrôle de qualité externe peuvent être préparée en ajoutant des cellules de culture infectées par HPV (c.-à-d., SiHa, HeLa ou MS751) au STM d'un tube de transfert d'échantillon Aptima ou à une matrice composée d'un échantillon (ou groupe d'échantillons) cytologique en milieu liquide ThinPrep négatif au HPV dilué au 1/2,9 avec du STM. Des cellules ajoutées à la concentration de 25 cellules/ml (10 cellules par réaction) surveillent les échecs significatifs de réactif, mais ne surveillent pas nécessairement les performances au seuil du test. Il revient aux laboratoires d'établir des critères d'acceptation (p. ex., le pourcentage de positivité) pour les échantillons de contrôle de qualité externe.

B. Critères d'acceptation des calibrateurs

Le tableau ci-dessous définit les critères RLU des réplicats des calibrateurs négatif et positif.

	Tigris DTS System	Panther System
Calibrateur négatif		
RLU 18/45	*≥ 0 et ≤ 60 000 RLU*	*≥ 0 et ≤ 60 000 RLU*
RLU du IC/16	*≥ 75 000 et ≤ 300 000 RLU*	*≥ 75 000 et ≤ 300 000 RLU*
Calibrateur positif 1		
RLU 18/45	*≥ 850 000 et ≤ 2 200 000 RLU*	*≥ 800 000 et ≤ 2 200 000 RLU*
RLU du IC/16	*≤ 475 000 RLU*	*≤ 475 000 RLU*
Calibrateur positif 2		
RLU 18/45	*≤ 115 000 RLU*	*≤ 115 000 RLU*
RLU du IC/16	*≥ 625 000 et ≤ 4 000 000 RLU*	*≥ 625 000 et ≤ 4 000 000 RLU*

C. Seuil du IC

Le seuil du IC est déterminé par le signal de l'analyte IC/16 produit par les réplicats valides du calibrateur négatif.

Seuil du IC = *0,5 x [RLU IC/16 moyen pour les réplicats valides du calibrateur négatif]*

D. Seuil de l'analyte 16

Le seuil d'analyte pour HPV 16 est déterminé par le signal RLU IC/16 produit par les réplicats valides du calibrateur négatif et les réplicats valides du calibrateur positif 2.

Seuil de l'analyte 16 = *2 x [RLU IC/16 moyen pour les réplicats valides du calibrateur négatif] + 0,1 x [RLU IC/16 moyen pour les réplicats valides du calibrateur positif 2]*

E. Signal d'analyte/seuil (S/CO) de l'analyte 16

Le S/CO d'analyte pour HPV 16 est déterminé par le signal RLU IC/16 produit par l'échantillon de test et par le seuil de l'analyte 16 pour la série.

$$\textbf{\textit{S/CO de l'analyte 16}} = \frac{\textit{RLU IC/16 de l'échantillon de test}}{\textit{seuil de l'analyte 16}}$$

F. Seuil de l'analyte 18/45

Le seuil d'analyte pour HPV 18/45 est déterminé par le signal RLU 18/45 produit par les réplicats valides du calibrateur négatif et les réplicats valides du calibrateur positif 1.

Seuil de l'analyte 18/45 = *1 x [RLU 18/45 moyen pour les réplicats valides du calibrateur négatif] + 0,18 x [RLU 18/45 moyen pour les réplicats valides du calibrateur positif 1]*

G. Signal d'analyte/seuil (S/CO) de l'analyte 18/45

Le S/CO d'analyte pour HPV 18/45 est déterminé par le signal RLU 18/45 produit par l'échantillon de test et par le seuil de l'analyte 18/45 pour la série.

$$\textbf{\textit{S/CO de l'analyte 18/45}} = \frac{\textit{RLU 18/45 de l'échantillon de test}}{\textit{seuil de l'analyte 18/45}}$$

Interprétation du test – Tigris DTS System et Panther System

Les résultats des tests sont automatiquement déterminés par le logiciel de test. Un résultat de test peut être négatif au HPV 16 et HPV 18/45, négatif au HPV 16 et positif au HPV 18/45, positif au HPV 16 et négatif au HPV 18/45, positif au HPV 16 et positif au HPV 18/45, ou non valide tel que déterminé par la valeur RLU de l'IC et les rapports S/CO décrits dans le tableau ci-dessous. Un résultat de test peut aussi être non valide en raison d'autres paramètres (p. ex., forme anormale de la courbe) qui se situent en dehors des seuils normalement attendus. Si les résultats d'un test ne sont pas valides, le test doit être répété.

Résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Critères
Négatif – 16 **Négatif – 18/45**	*RLU du IC/HPV 16 ≥ seuil du IC et* *S/CO HPV 16 < 1,00 et* *S/CO HPV 18/45 < 1,00*
Négatif – 16 **Positif – 18/45**	*S/CO HPV 16 < 1,00 et* *S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 et* *RLU HPV 18/45 ≤ 3 000 000*
Positif – 16 **Négatif – 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 et* *RLU du IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 et* *S/CO HPV 18/45 < 1,00*
Positif – 16 **Positif – 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 et* *RLU du IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 et* *S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 et* *RLU HPV 18/45 ≤ 3 000 000*
Non valide	*S/CO HPV 16 < 1,00 et* *S/CO HPV 18/45 < 1,00 et* *RLU du IC/HPV 16 < seuil du IC* *ou* *RLU du IC/HPV 16 > 4 000 000* *ou* *RLU HPV 18/45 > 3 000 000*

Remarque : *Les résultats des échantillons de contrôle de qualité externe fournis par l'utilisateur doivent être surveillés et évalués par le personnel du laboratoire conformément aux protocoles du laboratoire.*

Limites – Tigris DTS System et Panther System

A. Les performances du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay n'ont pas été évaluées pour les personnes vaccinées contre le HPV.

B. Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay n'a pas été évalué dans les cas d'abus sexuel soupçonné.

C. La prévalence de l'infection par HPV dans une population donnée peut affecter les performances. Les coefficients de prévision positifs diminuent quand la population testée a un taux de prévalence bas ou que les individus n'ont pas de risque d'infection.

D. Les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep contenant moins de 1 ml après la préparation de la lame du ThinPrep Pap Test sont considérés comme inadéquats pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

E. Les résultats du test peuvent être affectés par le prélèvement, la conservation ou le traitement incorrects des échantillons.

F. Le contrôle interne (IC) vérifie les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Il n'est pas prévu pour contrôler l'adéquation de l'échantillonnage cervical.

G. Un résultat négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay n'exclut pas la possibilité d'anomalies cytologiques ou d'une lésion CIN2, CIN3 ou un cancer sous-jacents ou futurs.

H. Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay fournit des résultats qualitatifs. Les niveaux d'analytes ne sont pas nécessairement associés aux valeurs S/CO (c.-à-d., le niveau d'expression du mRNA d'un échantillon n'est pas nécessairement en corrélation avec l'ampleur d'un signal de test positif). Des valeurs de S/CO élevées peuvent être constatées dans les échantillons qui sont proches du seuil de détection du test, et des valeurs de S/CO faibles peuvent être constatées dans les échantillons qui dépassent le seuil de détection. La réalisation de plusieurs tests sur un échantillon peut produire des valeurs S/CO différentes.

I. La détection du mRNA du High-Risk HPV (types 16, 18 et 45) dépend du nombre de copies présentes dans l'échantillon, et peut être affectée par les méthodes de prélèvement des échantillons, les facteurs relatifs au patient, le stade de l'infection et la présence de substances interférentes.

J. L'infection à HPV n'est pas indicative d'une LIHG cytologique ni d'une lésion CIN sous-jacente de haut grade, et n'implique pas le développement ultérieur d'une lésion CIN2 ou CIN3 ou d'un cancer. La plupart des femmes infectées par un ou plusieurs types de High-Risk HPV ne développent pas de lésions CIN2, CIN3 ni de cancer.

K. Les substances suivantes peuvent interférer avec les performances du test lorsqu'elles sont présentes à des concentrations supérieures à celles qui sont indiquées : lubrifiants vaginaux (contenant du Polyquaternium-15) à 1 % m/v, crème antifongique (contenant du tioconazole) à 0,03 % m/v, mucus à 0,3 % m/v, hormones intravaginales (contenant de la progestérone) à 1 % m/v, *Trichomonas vaginalis* à 3 x 10^4 cellules/ml.

L. Des concentrations élevées de HPV 45 peuvent diminuer la capacité du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay à détecter la présence de HPV 16 à des faibles niveaux.

M. Les effets d'autres variables potentielles, telles que les écoulements vaginaux, l'utilisation de tampons, etc., et des variables de prélèvement des échantillons, n'ont pas été évalués.

N. L'utilisation de ce dispositif doit être réservée au personnel formé à l'utilisation Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

O. La contamination croisée des échantillons peut produire des résultats faussement positifs. Le taux de contamination de transfert du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Tigris DTS System et le Panther System a été estimé respectivement, dans des études non cliniques, à 0,35 % et à 0,19 %.

P. L'interprétation des résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay doit être effectuée en relation avec les autres données cliniques et d'analyse dont dispose le clinicien.

Résultats attendus avec le Tigris DTS System : Prévalence du mRNA du High-Risk HPV

La prévalence d'une infection par High-Risk HPV varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.[19,20] De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV en s'appuyant sur la détection du DNA du HPV ; cependant, peu d'études rapportent la prévalence en fonction de la détection du mRNA oncogène du HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n = 18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été inscrites à l'essai CLEAR, une étude clinique prospective, afin d'évaluer le Aptima HPV Assay, qui détecte 14 types de High-Risk HPV.[21] Les échantillons des femmes de l'essai CLEAR dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay ont été évalués dans 3 sites de test avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, dans une étude clinique séparée. La prévalence du HPV 16, 18/45 ainsi que des 11 types restants du High-Risk HPV observés dans l'étude clinique, d'après les résultats des tests réalisés avec le Aptima HPV Assay et le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, a été classée de manière globale, par tranche d'âge et par site de test. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 1 pour les populations avec un résultat d'ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et les populations avec un résultat négatif de NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy).

Tableau 1 : Prévalence du mRNA du High-Risk HPV dans les populations par tranche d'âge, par site de test et tous facteurs combinés

	Taux de positivité en % (x/n)							
	Population ASC-US (≥ 21 ans)				Population NILM (≥ 30 ans)			
	HPV 16 Pos.	Pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	11 autres pos. à HR*	HPV 16 Pos.	Pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	11 autres pos. à HR*
Tous	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
Tranche d'âge (en années)								
21 à 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
30 à 39	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4 188)	0,6 (27/4 188)	0 (0/4 188)	5,3 (221/4 188)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6 658)	0,3 (20/6 658)	0 (0/6 658)	3,0 (200/6 658)
Site de test								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3 666)	0,5 (18/3 666)	0 (0/3 666)	3,8 (141/3 666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3 671)	0,5 (17/3 671)	0 (0/3 671)	3,7 (136/3 671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3 509)	0,3 (12/3 509)	0 (0/3 509)	4,1 (144/3 509)

HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Pos. = positif
* Types de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68

Performances du test avec le Tigris DTS System

Conception de l'étude clinique portant sur le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été évalué à l'aide d'échantillons cytologiques de suivi prélevés chez des femmes ayant donné leur consentement dans le cadre de l'essai CLEAR, une étude clinique américaine multicentrique prospective.[21] L'essai CLEAR a été mené pour déterminer les performances cliniques du Aptima HPV Assay dans la détection des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 2 ou de pathologies cervicales plus graves (lésions ≥ CIN2). Les femmes ont été inscrites à l'étude ASC-US ou à l'étude NILM d'après les résultats cytologiques en milieu liquide ThinPrep de suivi, dans le cadre de dépistages de routine du cancer du col de l'utérus. La population de l'étude ASC-US comprenait des femmes de 21 ans et plus, présentant des résultats cytologiques d'ASC-US, et la population de l'étude NILM incluait des femmes de 30 ans ou plus, présentant des résultats cytologiques de NILM.

Des femmes provenant de 18 sites cliniques, principalement des cliniques d'obstétrique/gynécologie, reflétant une vaste distribution géographique et une population variée, ont subi des analyses. Au cours de l'essai CLEAR, des échantillons cytologiques de suivi résiduels ont été testés avec le Aptima HPV Assay et un test de DNA du HPV disponible sur le marché. Ces échantillons ont ensuite été divisés en aliquotes, qui ont été archivées et conservées à -70 °C jusqu'à ce qu'elles soient testées avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Tigris DTS System. Dans l'essai clinique sur le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, les échantillons provenant des échantillons cytologiques de suivi résiduels ont été testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Tigris DTS System.

Les femmes de l'étude ASC-US ont toutes été orientées vers une colposcopie, indépendamment des résultats du Aptima HPV Assay et du test de DNA du HPV disponible sur le marché. Une biopsie par curetage endocervical (CEC) et des biopsies cervicales à l'emporte-pièce (1 biopsie de chacun des 4 quadrants) ont été effectuées. Une biopsie à l'emporte-pièce a été menée (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion) à chaque fois qu'une lésion était visible et les quadrants exempts de lésion visible ont été biopsiés à la jonction pavimento-cylindrique (méthode aléatoire).

Dans l'étude NILM, les femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay et/ou avec le test de DNA du HPV disponible sur le marché, ainsi que les femmes sélectionnées aléatoirement et dont les résultats étaient négatifs avec les deux tests, ont été orientées vers une colposcopie pour l'évaluation initiale. Une biopsie par CEC a été réalisée chez chacune des femmes ayant subi la colposcopie. Des biopsies à l'emporte-pièce ont été obtenues uniquement sur les lésions visibles (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion). Le suivi des femmes de l'étude NILM qui ne présentaient pas de lésion ≥ CIN2 au début de l'étude est en cours depuis 3 ans, au moyen d'examens cytologiques annuels. Les femmes avec des résultats cytologiques d'ASC-US ou plus graves pendant la période de suivi sont orientées vers une colposcopie basée sur la même procédure de biopsie que celle utilisée lors de l'évaluation initiale.

L'état pathologique a été déterminé à partir d'un panel d'examen histologique consensuel, fondé sur l'accord d'au moins 2 pathologistes experts. L'état cytologique et HPV des femmes était inconnu des pathologistes experts et aucun ne connaissait les diagnostics histologiques réalisés par l'autre. Les chercheurs, les cliniciens et les femmes n'ont pas eu connaissance des résultats du Aptima HPV Assay et du test de DNA du HPV disponible sur le marché jusqu'à la réalisation de la colposcopie, afin d'éviter les biais.

Pour valider l'usage prévu du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay en tant que test réflexe à la suite d'un résultat positif avec le Aptima HPV Assay, les échantillons cytologiques de suivi résiduels provenant de toutes les femmes évaluables de l'étude ASC-US et de l'étude NILM présentant des

résultats positifs avec le Aptima HPV Assay ont été admis pour être testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Les performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay dans la détection des lésions ≥ CIN2 et des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 3 ou de pathologies cervicales plus graves (≥ CIN3) ont été évaluées.

Population ASC-US ≥ 21 ans : Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Au total, 400 femmes évaluables âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques d'ASC-US et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay, avaient des échantillons cytologiques de suivi éligibles pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Parmi celles-ci, 46 femmes ne disposaient pas d'un échantillon cytologique de suivi en volume suffisant pour être testé dans cette étude et 6 avaient un diagnostic pathologique indéterminé ; après analyse des valeurs manquantes, elles n'ont pas été inclues dans les calculs de performance. Les 348 femmes évaluables avec un état pathologique concluant avaient des résultats valides avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; et ce sur la base des tests réflexes d'un résultat positif avec le Aptima HPV Assay. Soixante-sept (67) femmes avaient des lésions ≥ CIN2 et 29 avaient des lésions ≥ CIN3.

Sur les 348 femmes évaluables dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay, 117 avaient des résultats positifs avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, indiquant la présence de HPV 16 et/ou HPV 18/45 ; 231 avaient des résultats négatifs, indiquant la présence d'un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV tells que détectés par le Aptima HPV Assay (c.-à-d., types de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68). Les résultats de 545 femmes évaluables supplémentaires, âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques ASC-US, étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay au cours de l'essai CLEAR. Un résultat négatif avec le Aptima HPV Assay indique qu'aucun des 14 types de High-Risk HPV n'est présent dans l'échantillon ; ce dernier est donc désigné comme négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay aux fins de l'analyse. La prévalence des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec un résultat cytologique d'ASC-US s'élevait respectivement à 8,8 % et 3,7 %. Les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay d'après le résultat du Aptima HPV Assay et le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel sont présentés dans le Tableau 2.

Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test*	Interprétation	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
			Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Pos. HPV 16, Nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16	1	27	18	11	14	0	71
	Nég. HPV 16 Pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45	3	23	14	3	3	1	47
	Pos. HPV 16, Pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Nég. HPV 16 Nég. HPV 18/45	Pos. autres HPV HR	2	125	73	23	10	0	233
		Total	6	176	105	38	28	1	354
Négatif	Nég. HPV 16/18/45***	Nég. HPV HR	13	458	75	8	4	0	558
		Total	19	634	180	46	32	1^	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = néoplasie cervicale intraépithéliale de grade 1 ; HR = à haut risque ; Nég. = négatif, Pos. = Positif

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux (lors du test final ou après la résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**19 femmes se sont rendues à la consultation pour la colposcopie, mais un diagnostic n'a pas pu être établi pour les raisons suivantes : < 5 échantillons de biopsie obtenus, tous avec un résultat d'histologie Normal/CIN1 (n=15), aucune biopsie prélevée (n=3) et lames de biopsie perdues (n=1).

***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/

45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.
^Une femme a présenté un adenocarcinoma in situ (AIS).

Le risque absolu de maladie (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay sont présentés dans le Tableau 3. Le risque de lésions ≥ CIN2 chez les femmes présentant des types de HPV 16, 18 et/ou 45 était de 29,1 %, par rapport à 14,3 % chez les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV et de 2,2 % chez les femmes ne présentant aucun des types de High-Risk HPV. Le risque absolu est indiqué par tranche d'âge dans le Tableau 4.

Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	Nég. HPV 16 pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
		Prévalence	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

	Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
				Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
21 à 29 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
			Prévalence	13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
30 à 39 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
			Prévalence	7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
≥ 40 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
			Prévalence	3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Le risque relatif de maladie d'après les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont présentés dans le Tableau 5. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 13,2 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 22,1 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes ne présentant aucun type de High-Risk HPV. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 2,0 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 3,8 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV.

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à négatif au HPV HR	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à positif aux autres HPV HR	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Positif aux autres HPV HR par rapport à négatif au HPV HR	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
Positif au HPV HR par rapport à négatif au HPV HR	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prévalence	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les rapports de vraisemblance (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, sont indiqués dans le Tableau 6. Les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 4,2 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN2 et 5,1 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN3.

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Positif aux autres HPV HR	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
Négatif au HPV HR	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Population NILM ≥ 30 ans : Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Au total, l'étude a inclus 540 femmes évaluables de 30 ans ou plus, avec des résultats cytologiques de NILM et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay, qui avaient des échantillons cytologiques de suivi éligibles pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Parmi celles-ci, 25 femmes (18 femmes ayant subi une colposcopie et 7 n'en ayant pas subi) ne disposaient pas d'un échantillon cytologique de suivi en volume suffisant pour être testé dans cette étude ; après analyse des valeurs manquantes, elles n'ont pas été incluses dans les calculs de performance. Les 515 femmes évaluables avaient des résultats valides avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Parmi celles-ci, 317 ont subi une colposcopie. Quinze (15) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et 10 des lésions ≥ CIN3 ; 283 femmes avaient un résultat d'histologie Normal/CIN1 ; 19 femmes avaient un état pathologique indéterminé.

Sur les 298 femmes évaluables avec un état pathologique concluant et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay, 61 avaient des résultats positifs avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, indiquant la présence de HPV 16 et/ou HPV 18/45 ; 237 avaient des résultats négatifs, indiquant la présence d'un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV. Les résultats de 505 femmes évaluables supplémentaires, âgées de 30 ans ou plus, avec des résultats cytologiques de NILM et un état pathologique concluant, étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay au cours de l'essai CLEAR. Un résultat négatif avec le Aptima HPV Assay indique qu'aucun des 14 types de High-Risk HPV n'est présent dans l'échantillon ; ce dernier est donc désigné comme négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay aux fins de l'analyse. Les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay d'après le résultat du Aptima HPV Assay et le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Population NILM ≥ 30 ans : Résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay d'après le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test*	Interprétation	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
			Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16	2	27	0	0	3	1	33
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45	1	26	1	1	0	2	31
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0	0	0	0	0	0	0
	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. autres HPV HR	16	218	11	4	4	0	253
		Total	19	271	12	5	7	3	317
Négatif	Nég. HPV 16/18/45***	Nég. HPV HR	25	483	17	4	1	0	530
		Total	44	754	29	9	8	3^	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**44 femmes se sont rendues à la consultation pour la colposcopie, mais un diagnostic n'a pas pu être établi pour les raisons suivantes : un consensus n'a pas pu être obtenu en raison de d'échantillons inadéquats (n=28), d'aucune biopsie prélevée en raison de facteurs sous-jacents (n=13), d'aucune biopsie prélevée ou examinée pour cause d'erreur (n=3).

***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

^Trois femmes ont présenté un adenocarcinoma in situ (AIS).

Sur les 515 femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay et le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 217 avaient un état pathologique non vérifié (incluant les états indéterminés) (Tableau 3). Sur les 10 331 femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay dans le cadre de l'essai CLEAR original, 9 826 avaient un état pathologique non vérifié. La proportion de femmes avec un état pathologique non vérifié était élevée dans ce groupe (96,6 %), car l'étude était conçue de manière à ce que seules des femmes sélectionnées aléatoirement et présentant des résultats négatifs avec le Aptima HPV Assay et avec le test de DNA du HPV disponible sur le marché soient orientées vers une colposcopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes atteintes de lésions qui aurait été identifié si toutes les femmes avaient subi une colposcopie étant donné les résultats du test. Les estimations des performances corrigées pour le biais de vérification et les estimations des performances non corrigées basées sur les 803 femmes avec un état pathologique vérifié sont présentées.

Tableau 3: Population NILM ≥ 30 ans : Classification des femmes NILM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV Assay, du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, du test de DNA du HPV, de l'état pathologique (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) et de l'état de vérification de la maladie

Résultat du Aptima HPV Assay*	Résultat du test AHPV-GT*	Test de DNA du HPV	Total femmes	État pathologique vérifié : ≥ CIN2		État pathologique vérifié : ≥ CIN3		État pathologique non vérifié
				Femmes atteintes (≥ CIN2)	Femmes non atteintes (lésions < CIN2)	Femmes atteintes (lésions ≥ CIN3)	Femmes non atteintes (lésions < CIN3)	Femmes avec un statut pathologique inconnu (% inconnu)
Positif	Positif	Positif	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Positif	Négatif	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Positif	Aucun résultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Négatif	Positif	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Négatif	Négatif	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Négatif	Aucun résultat**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
		Total	515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Négatif	S.O.***	Positif	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	S.O.***	Négatif	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6 %)
	S.O.***	Aucun résultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
		Total	10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; SO = Sans objet
*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).
**620 femmes disposant de résultats avec le Aptima HPV Assay n'avaient pas de résultat de test de DNA du HPV, principalement en raison d'un volume insuffisant de l'échantillon cytologique.
***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les risques absolus corrigés de maladie (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay sont présentés dans le Tableau 4a. Le risque de lésions ≥ CIN2 chez les femmes présentant des types de HPV 16, 18 et/ou 45 était de 12,6 %, par rapport à 3,4 % chez les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV et de 0,6 % chez les femmes ne présentant aucun des types de High-Risk HPV. Les risques absolus de maladie non corrigés sont présentés de manière globale dans le Tableau 9b et par tranche d'âge dans le Tableau 10.

Tableau 4a : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations corrigées pour le biais de vérification)

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O.	S.O.
	Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
		Prévalence	0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Tableau 9b : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations non corrigées)

Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
	Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
		Prévalence	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Tableau 10 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay, par tranche d'âge (estimations non corrigées)

	Résultat du Aptima HPV Assay	AHPV-GT Résultat du test	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
				Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
30 à 39 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
			Prévalence	2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
≥ 40 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	0 (0/13) (0,0, 20,1)	0 (0/13) (0,0, 17,1)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0 (0/288) (0,0, 0,8)
			Prévalence	2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Le risque relatif de maladie d'après les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont présentés dans le Tableau 11 (résultats corrigés pour le biais de vérification) et le Tableau 12 (non corrigés). Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 20,9 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 29,4 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes ne présentant aucun type de High-Risk HPV. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 3,7 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 5,3 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV.

Tableau 11 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations corrigées pour le biais de vérification)

Interprétation du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à nég. HPV HR	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à pos. autres HPV HR	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Pos. autres HPV HR par rapport à nég. HPV HR	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
Pos. HPV HR par rapport à nég. HPV HR	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prévalence	0,9 %	0,5 %

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Tableau 12 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations non corrigées)

Interprétation du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à nég. HPV HR	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à pos. autres HPV HR	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Pos. autres HPV HR par rapport à nég. HPV HR	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
Pos. HPV HR par rapport à nég. HPV HR	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prévalence	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les rapports de vraisemblance (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont indiqués dans le Tableau 13 (résultats corrigés pour le biais de vérification) et dans le Tableau 14 (non corrigés). Les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 17,1 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN2 et 21,9 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN3.

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Positif aux autres HPV HR	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
Négatif au HPV HR	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Positif aux autres HPV HR	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
Négatif au HPV HR	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay avec les échantillons prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical

Les échantillons prélevés avec le kit CSCT ont été recueillis chez des femmes lors d'un dépistage de routine ou d'une visite de suivi, puis testés avec le Aptima HPV Assay. Des échantillons prélevés avec le kit CSCT résiduels (n=378) dont le résultat était positif avec le Aptima HPV Assay ont été testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Tigris DTS System. Le génotype HPV de chaque échantillon a été déterminé avec un test de génotypage de DNA. Les échantillons dont les résultats des tests de génotypage (DNA et Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay) étaient en conflit ont été testés avec un test validé de séquençage par PCR après transcription inverse afin de déterminer leur état HPV 16, HPV 18 et HPV 45. La concordance clinique (positive et négative) du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pour la détection du High-Risk HPV de type 16, 18 et 45 a été déterminée. Les résultats sont présentés dans le Tableau 15.

		Méthode de référence				
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	Total
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	125	0	1	0	126
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	0	43	0	1	44
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	0	0	8	1	9
	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	1	1	0	197	199
	Total	126	44	9	199	378

Nég. = négatif ; Pos. = positif

Concordance positive : 98,3 % (176/179) (IC à 95 % : 95,2, 99,4)

Concordance négative : 99,0 % (197/199) (IC à 95 % : 96,4, 99,7)

Seuil de détection du seuil clinique

Le seuil de détection (SdD) du seuil clinique est une concentration qui est positive (supérieure au seuil clinique) 95 % du temps. Le SdD du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été déterminé en testant des panels de transcrits *in vitro* (TIV) dilués pour les génotypes 16, 18 et 45. Avant de procéder aux tests, le milieu pour transport d'échantillon a été supplémenté avec le TIV à différentes concentrations, puis dilué avec des d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs individuels. Trente réplicats de chaque taux de copie ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 90 réplicats. Les tests ont été exécutés sur une période de 6 jours, avec 3 séries réalisées par jour, chaque série comprenant 5 réplicats d'un génotype et d'une concentration donnés. Le seuil de détection à 95 % (Tableau 16) a été calculé par une analyse de régression Probit des résultats de positivité pour chaque panel de dilution.

Cible	Seuil de détection copies/réaction (IC à 95 %)
HPV 16	57,3 (46,5 - 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 - 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 - 82,3)

IC = intervalle de confiance

Précision du test

La précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été évaluée dans deux études en utilisant le même panel de 22 échantillons. L'étude 1 a été menée dans 3 sites de test externes afin de déterminer la reproductibilité du test. L'étude 2 a été menée en interne afin de déterminer la précision intra-laboratoire. Le panel comprenait 14 échantillons positifs au HPV 16 et/ou 18/45 avec des concentrations égales ou supérieures au seuil de détection du test (positivité attendue : ≥ 95 %), 5 échantillons positifs au HPV 16 et/ou 18/45 avec des concentrations inférieures au seuil de détection du test (positivité attendue : > 0 % à < 25 %) et 3 échantillons négatifs au HPV. Les échantillons du panel positifs au HPV 16 et/ou 18/45 ont été préparés en ajoutant des cellules de culture infectées par le HPV (SiHa, HeLa et MS751 ; ATCC, Manassas, Virginia, États-Unis) à des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep résiduels ou en diluant des échantillons cliniques du HPV 16, 18 et/ou 45 dans des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep résiduels. Les échantillons du panel négatifs au HPV ont été préparés avec des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep.

Dans l'étude 1, 2 opérateurs dans chacun des 3 sites de test (1 appareil par site) ont réalisé 2 listes de travail du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay par jour, pendant 3 jours. Le test a été effectué en utilisant 1 lot de réactif. Chaque liste de travail contenait 3 réplicats de chacun des échantillons du panel de reproductibilité. Cent huit (108) tubes d'échantillon individuel ont été testés pour chaque échantillon du panel (3 sites x 1 appareil x 2 opérateurs x 1 lot x 2 listes de travail par jour x 3 jours x 3 réplicats). Dans l'étude 2, le test a été mené en interne pendant 20 jours, avec un total de 162 réactions testées pour chaque échantillon du panel (1 site x 3 appareils x 3 opérateurs x 3 lots x 2 listes de travail x 3 réplicats).

Les échantillons du panel sont décrits dans le Tableau 13a et le Tableau 17b, accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats attendus respectivement pour le HPV 16 et le HPV 18/45.

Tableau 13a : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay : Description du panel et concordance en pourcentage avec les résultats attendus pour le HPV 16

Description du panel (cellules/réaction)		Concordance en pourcentage (IC à 95 %)	
	Résultat attendu pour le HPV 16	Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
Cellules SiHa (3,0 cellule) Moyennement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules HeLa (0,6 cellules) Moyennement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (11,0 cellule) Moyennement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 16 Moyennement positif	Positif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 18/45 Moyennement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellules SiHa (1,6 cellule) – Faiblement positif et cellules HeLa (3,3 cellules) – Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellules SiHa (1,6 cellule) – Faiblement positif et cellules MS751 (42,5 cellules) – Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellules SiHa (15,7 cellules) – Fortement positif et cellules HeLa (0,3 cellule) – Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellules SiHa (15,7 cellules) – Fortement positif et cellules MS751 (4,3 cellules) – Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (1,6 cellule) Faiblement positif	Positif	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellules HeLa (0,3 cellules) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellules MS751 (4,3 cellule) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 HPV 16 Faiblement positif	Positif	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
Échantillon clinique 2 HPV 18/45 Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,1 cellule) Fortement négatif	Négatif	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
Cellules HeLa (0,02 cellules) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (0,04 cellule) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 3 HPV 16 Fortement négatif	Négatif	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Échantillon clinique 3 HPV 18/45 Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Échantillon clinique 1 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 3 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = intervalle de confiance
Remarque : *La concordance en pourcentage a pu être affectée par des variations lors de l'ajout de substances, la dilution et/ou l'aliquotage.*

Tableau 17b : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay : Description du panel et concordance en pourcentage avec les résultats attendus pour le HPV 18/45

Description du panel (cellules/réaction)	Résultat attendu pour le HPV 18/45	Concordance en pourcentage (IC à 95 %)	
		Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
Cellules SiHa (3,0 cellule) Moyennement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellules HeLa (0,6 cellules) Moyennement positif	Positif	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Cellules MS751 (11,0 cellule) Moyennement positif	Positif	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Échantillon clinique 1 HPV 16 Moyennement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 18/45 Moyennement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellules SiHa (1,6 cellule) – Faiblement positif et cellules HeLa (3,3 cellules) – Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (1,6 cellule) – Faiblement positif et cellules MS751 (42,5 cellules) – Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellules SiHa (15,7 cellules) – Fortement positif et cellules HeLa (0,3 cellule) – Faiblement positif	Positif	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
Cellules SiHa (15,7 cellules) – Fortement positif et cellules MS751 (4,3 cellules) – Faiblement positif	Positif	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Cellules SiHa (1,6 cellule) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellules HeLa (0,3 cellules) Faiblement positif	Positif	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
Cellules MS751 (4,3 cellule) Faiblement positif	Positif	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
Échantillon clinique 2 HPV 16 Faiblement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
Échantillon clinique 2 HPV 18/45 Faiblement positif	Positif	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
Cellules SiHa (0,1 cellule) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules HeLa (0,02 cellules) Fortement négatif	Négatif	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
Cellules MS751 (0,04 cellule) Fortement négatif	Négatif	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Échantillon clinique 3 HPV 16 Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Échantillon clinique 3 HPV 18/45 Fortement négatif	Négatif	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
Échantillon clinique 1 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Échantillon clinique 2 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 3 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

IC = intervalle de confiance
Remarque : *La concordance en pourcentage a pu être affectée par des variations lors de l'ajout de substances, la dilution et/ou l'aliquotage.*

Réactivité croisée

La spécificité analytique du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été évaluée avec des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep résiduels, dilués au 1/2,9 avec du STM (comparable aux échantillons transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima) et supplémentés avec des bactéries, levures ou mycoses de culture, des virus de culture ou des transcrits *in vitro* de HPV non ciblé. Les organismes et les concentrations testées pour lesquels aucune réactivité croisée n'a été observée sont identifiés dans le Tableau 18. Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence d'un micro-organisme sur la spécificité du test étaient basés sur la positivité.

Tableau 18 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration sans réactivité croisée

Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée	Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée
Bactéries			
Acinetobacter lwoffii	$1x10^6$ CFU/ml	*Lactobacillus acidophilus*	$1x10^6$ CFU/ml
Actinomyces israelii	$1x10^6$ CFU/ml	*Lactobacillus crispatus*	$1x10^6$ CFU/ml
Alcaligenes faecalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Listeria monocytogenes*	$1x10^6$ CFU/ml
Atopobium vaginae	$1x10^6$ CFU/ml	*Mobiluncus curtisii*	$1x10^6$ CFU/ml
Bacteroides fragilis	$1x10^6$ CFU/ml	*Mycoplasma genitalium**	$2,5x10^6$ copies/ml
Bifidobacterium adolescentis	$1x10^6$ CFU/ml	*Mycoplasma hominis*	$1x10^6$ CFU/ml
Campylobacter jejuni	$1x10^6$ CFU/ml	*Neisseria gonorrhoeae*	$1x10^6$ CFU/ml
Chlamydia trachomatis	$1x10^5$ IFU/ml	*Peptostreptococcus magnus*	$1x10^6$ CFU/ml
Clostridium difficile	$1x10^6$ CFU/ml	*Prevotaella bivia*	$1x10^6$ CFU/ml
Corynebacterium genitalium	$1x10^6$ CFU/ml	*Propionibacterium acnes*	$1x10^6$ CFU/ml
Cryptococcus neoformans	$1x10^6$ CFU/ml	*Proteus vulgaris*	$1x10^6$ CFU/ml
Enterobacter cloacae	$1x10^6$ CFU/ml	*Pseudomonas aeruginosa*	$1x10^6$ CFU/ml
Enterococcus faecalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Staphylococcus aureus*	$1x10^6$ CFU/ml
Escherichia coli	$1x10^6$ CFU/ml	*Staphylococcus epidermidis*	$1x10^6$ CFU/ml
Fusobacterium nucleatum	$1x10^6$ CFU/ml	*Streptococcus agalactiae*	$1x10^6$ CFU/ml
Gardnerella vaginalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Streptococcus pyogenes*	$1x10^6$ CFU/ml
Haemophilus ducreyi	$1x10^6$ CFU/ml	*Ureaplasma urealyticum*	$1x10^6$ CFU/ml
Klebsiella pneumoniae	$1x10^6$ CFU/ml		
Génotypes du High-Risk HPV non ciblés*			
HPV 31	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 56	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 33	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 58	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 35	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 59	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 39	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 66	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 51	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 68	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 52	$2,5x10^6$ copies/ml		

Tableau 18 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration sans réactivité croisée *(suite)*

Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée	Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée
Virus			
Adénovirus	$5,25x10^7$ PFU/ml	HIV-1	$2,5x10^6$ copies/ml
Cytomégalovirus	$1,58x10^6$ $TCID_{50}$/ml	Virus de l'herpès simplex 1	$3,39x10^6$ $TCID_{50}$/ml
Virus Epstein-Barr	$1,59x10^5 TD_{50}$/ml	Virus de l'herpès simplex 2	$2,29x10^6$ $TCID_{50}$/ml
Autres génotypes du HPV non ciblés*			
HPV 6	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 53	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 11	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 67	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 26	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 69	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 30	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 70	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 34	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 73	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 42	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 82	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 43	$2,5x10^6$ copies/ml	HPV 85	$2,5x10^6$ copies/ml
HPV 44	$2,5x10^6$ copies/ml		
Levures/protozoaires			
Candida albicans	$1x10^6$ CFU/ml	*Trichomonas vaginalis***	$1x10^5$ cellules/ml

CFU= Colony Forming Units (unités formant colonies) ; IFU = Inclusion Forming Units (unités de formation des inclusions) ; PFU = Plaque Forming Units (unités formant plages) ; TD_{50} = dose qui provoque 50 % de tumeurs ; $TCID_{50}$ = dose infectant 50 % des cultures tissulaires

*Transcrit *in vitro* testé.

**Bien qu'aucune réactivité croisée n'ait été observée avec *Trichomonas vaginalis*, des interférences ont été notées (voir ci-dessous).

La sensibilité analytique du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay en présence de micro-organismes a été évaluée avec le même panel décrit dans le Tableau 18, qui a également été supplémenté avec une faible concentration de cellules SiHa infectées au HPV (1,6 cellule/réaction) et de cellules HeLa infectées au HPV (0,3 cellule/réaction). Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence d'un micro-organisme sur la sensibilité du test étaient basés sur la positivité. La présence de micro-organismes n'a pas interféré avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, à l'exception du *Trichomonas vaginalis* (TV). Des interférences ont été observées avec la TV lorsque celle-ci est présente à des concentrations supérieures à $3 x 10^4$ cellules/ml.

Interférence

Les substances décrites dans le Tableau 19 ont été individuellement ajoutées à des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep dilués au 1/2,9 dans du STM aux concentrations indiquées dans le tableau. Toutes les substances ont été testées avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay en la présence ou l'absence de cellules de culture infectées par HPV (SiHa, 1,6 cellule/réaction et HeLa, 0,3 cellule/réaction). Des interférences ont été observées avec les substances suivantes lorsque celles-ci sont présentes à des concentrations supérieures à celles qui sont indiquées : lubrifiants vaginaux (contenant du Polyquaternium-15) à 1 % m/v, crème antifongique (contenant du tioconazole) à 0,03 % m/v, mucus à 0,3 % m/v, hormones intravaginales (contenant de la progestérone) à 1 % m/v.

Tableau 19 : Substances testées pour évaluer d'éventuelles interférences avec le test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Catégorie de produit	Type ou marque de produit	Concentration testée la plus élevée n'ayant pas interféré avec le test*
Lubrifiant vaginal	KY natural feeling liquid	10 % v/v
	Liquide lubrifiant personnel Up & Up (marque Target)	
	Astroglide**	1 % m/v
Spermicide/gel contraceptif	Mousse contraceptive vaginale (MCV)	10 % m/v
	Options : Gel contraceptif vaginal Conceptrol	
Pommade antifongique	Miconazole 3 Up & Up (marque Target)	10 % m/v
	Monistat 3 Combipack	
	Tioconazole 1 Up & Up (marque Target)	0,03 % m/v
Douche vaginale	Douche vaginale Summer's Eve	10 % v/v
	Douche vaginale Up & Up (marque Target)	
Spray féminin	Spray déodorant féminin Summer's Eve	10 % m/v
	Spray déodorant féminin FDS	
Mucus	Mucine porcine	0,3 % m/v
Hormones intravaginales	Crème vaginale Estrace (œstrogène)	10 % m/v
	Crème Crinone (progestérone)	1 % m/v
Sang total* **	Sang total	5 % v/v
Leucocytes	Leucocytes	$1x10^7$ cellules/ml
Solution de lavage d'acide acétique glacial^	Acide acétique glacial + solution CytoLyt	2,6 % v/v

*concentration dans l'échantillon de test ; Échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep dilué au 1/2,9 dans du STM (comparable à un échantillon transféré dans un tube de transfert d'échantillons Aptima)

**Lubrifiants personnels contenant du Polyquaternium-15

***Une interférence du sang total avec le test a été constatée à une concentration de test de 10 % v/v.

^Solution de lavage à l'acide acétique glacial, préparé en mélangeant 1 volume d'acide acétique glacial et 9 volumes de solution Cytolyt conformément au ThinPrep 2000 System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du système ThinPrep 2000).

Résultats attendus avec le Panther System : Prévalence du mRNA du High-Risk HPV

La prévalence d'une infection par High-Risk HPV varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.[19,20] De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV en s'appuyant sur la détection du DNA du HPV ; cependant, peu d'études rapportent la prévalence en fonction de la détection du mRNA oncogène du HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n=18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été inscrites à l'essai CLEAR, une étude clinique prospective, afin d'évaluer le Aptima HPV Assay, qui détecte 14 types de High-Risk HPV.[21] Les échantillons des femmes de l'essai CLEAR dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System ont été évalués dans 3 sites de test avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System, dans une étude clinique séparée. La prévalence du HPV 16, 18/45, ainsi que des 11 types restants de High-Risk HPV observés dans l'étude clinique, d'après les résultats des tests réalisés avec le Aptima HPV Assay et le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System, a été classée de manière globale, par tranche d'âge et par site de test. Un résultat négatif avec le Aptima HPV Assay réalisé sur le Panther System indique qu'aucun des 14 types de High-Risk HPV n'est présent dans l'échantillon ; ce dernier est donc désigné comme négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System aux fins de l'analyse. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 20 pour les populations avec un résultat d'ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et les populations avec un résultat négatif de NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy).

Tableau 20 : Prévalence du mRNA du High-Risk HPV dans les populations par tranche d'âge, par site de test et tous facteurs combinés

	Taux de positivité en % (x/n)							
	Population ASC-US (≥ 21 ans)				**Population NILM (≥ 30 ans)**			
	HPV 16 Pos.	**Pos. HPV 18/45**	**Pos. HPV 16 et 18/45**	**11 autres pos. à HR***	**HPV 16 Pos.**	**Pos. HPV 18/45**	**Pos. HPV 16 et 18/45**	**11 autres pos. à HR***
Tous	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
Tranche d'âge (en années)								
21 à 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
30 à 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4 183)	0,7 (31/4 183)	0 (0/4 183)	5,1 (215/4 183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6 656)	0,3 (18/6 656)	< 0,1 (1/6 656)	2,6 (176/6 656)
Site de test**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3 610)	0,4 (16/3 610)	< 0,1 (1/3 610)	3,6 (130/3 610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3 614)	0,4 (15/3 614)	0 (0/3 614)	3,6 (130/3 614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Pos. = positif
Remarque : Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System aux fins de l'analyse.
* Types de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68
** Dans la population NILM, les sujets dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System n'ont pas tous été testés avec le Aptima 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System. Pour l'analyse par site de test, les résultats de ces femmes ont été aléatoirement affectés à l'un des 3 sites de test.

Performances du Panther System Assay

Conception de l'étude clinique portant sur le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Panther System avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Panther System a été évalué à l'aide d'échantillons cytologiques de suivi, prélevés chez des femmes ayant donné leur consentement dans le cadre de l'essai CLEAR, une étude clinique américaine multicentrique prospective.[21] L'essai CLEAR a été mené pour déterminer les performances cliniques du Aptima HPV Assay sur le Tigris DTS System dans la détection des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 2 ou de pathologies cervicales plus graves (lésions ≥ CIN2). Les femmes ont été inscrites à l'étude ASC-US ou à l'étude NILM d'après les résultats cytologiques en milieu liquide ThinPrep de suivi, dans le cadre de dépistages de routine du cancer du col de l'utérus. La population de l'étude ASC-US comprenait des femmes de 21 ans et plus, présentant des résultats cytologiques d'ASC-US, et la population de l'étude NILM incluait des femmes de 30 ans ou plus, présentant des résultats cytologiques de NILM.

Des femmes provenant de 18 sites cliniques, principalement des cliniques d'obstétrique/gynécologie, reflétant une vaste distribution géographique et une population variée, ont subi des analyses. Au cours de l'essai CLEAR, des échantillons cytologiques de suivi résiduels ont été testés avec le Aptima HPV Assay réalisé sur le Tigris DTS System et avec le test de DNA du HPV. Ces échantillons ont ensuite été divisés en aliquotes, qui ont été archivées et conservées à -70 °C jusqu'à ce qu'elles soient testées soit avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System, soit avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System. Les échantillons cytologiques de suivi résiduels de l'essai CLEAR éligibles ont été testés avec le Aptima HPV Assay réalisé sur le Panther System. Dans l'essai clinique sur le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, les échantillons provenant des échantillons cytologiques de suivi résiduels ont été testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Panther System.

Les femmes de l'étude ASC-US ont toutes été orientées vers une colposcopie, indépendamment des résultats du Aptima HPV Assay réalisé sur le Tigris DTS System et du test de DNA du HPV. Une biopsie par curetage endocervical (CEC) et des biopsies cervicales à l'emporte-pièce (1 biopsie de chacun des 4 quadrants) ont été effectuées. Une biopsie à l'emporte-pièce a été menée (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion) à chaque fois qu'une lésion était visible et les quadrants exempts de lésion visible ont été biopsiés à la jonction pavimento-cylindrique (méthode aléatoire).

Dans l'étude NILM, les femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Tigris DTS System et/ou avec le test de DNA du HPV, ainsi que les femmes sélectionnées aléatoirement et dont les résultats étaient négatifs avec les deux tests, ont été orientées vers une colposcopie pour l'évaluation initiale. Une biopsie par CEC a été réalisée chez chacune des femmes ayant subi la colposcopie. Des biopsies à l'emporte-pièce ont été obtenues uniquement sur les lésions visibles (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion). Le suivi des femmes de l'étude NILM ne présentant pas de lésion ≥ CIN2 est en cours depuis 3 ans, au moyen d'examens cytologiques annuels. Les femmes avec des résultats cytologiques d'ASC-US ou plus graves pendant la période de suivi sont orientées vers une colposcopie basée sur la même procédure de biopsie que celle utilisée lors de l'évaluation initiale.

L'état pathologique a été déterminé à partir d'un panel d'examen histologique consensuel, fondé sur l'accord d'au moins 2 pathologistes experts. L'état cytologique et HPV des femmes était inconnu des pathologistes experts et aucun ne connaissait les diagnostics histologiques réalisés par l'autre. Les chercheurs, les cliniciens et les femmes n'ont pas eu connaissance des résultats du test HPV jusqu'à la réalisation de la colposcopie, afin d'éviter les biais.

Pour valider l'usage prévu du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System en tant que test réflexe à la suite d'un résultat positif avec le Aptima HPV Assay, les échantillons cytologiques de

suivi résiduels provenant de toutes les femmes évaluables de l'étude ASC-US et de l'étude NILM présentant des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay ont été admis pour être testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System. Les performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Panther System dans la détection des lésions ≥ CIN2 et des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 3 ou de pathologies cervicales plus graves (≥ CIN3) ont été évaluées.

Population ASC-US ≥ 21 ans : Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Au total, 404 femmes évaluables âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques d'ASC-US et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System, avaient des échantillons cytologiques de suivi éligibles pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System. Parmi celles-ci, 45 femmes ne disposaient pas d'un échantillon cytologique de suivi en volume suffisant pour être testé dans cette étude et 6 avaient un diagnostic pathologique indéterminé ; après analyse des valeurs manquantes, elles n'ont pas été inclues dans les calculs de performance. Les 353 femmes évaluables avec un état pathologique concluant avaient des résultats valides avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System ; et ce sur la base des tests réflexes d'un résultat positif avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System. Soixante-sept (67) femmes avaient des lésions ≥ CIN2 et 30 avaient des lésions ≥ CIN3.

Sur les 353 femmes évaluables dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System, 118 avaient des résultats positifs avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System, indiquant la présence de HPV 16 et/ou HPV 18/45 ; 235 ont eu des résultats négatifs, indiquant la présence d'un ou de plusieurs des autres 11 types de High-Risk HPV tels que détectés par le Aptima HPV Assay (c.-à-d., types de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68). Les résultats de 539 femmes évaluables supplémentaires, âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques d'ASC-US, étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System. Un résultat négatif avec le Aptima HPV Assay indique qu'aucun des 14 types de High-Risk HPV n'est présent dans l'échantillon ; ce dernier est donc désigné comme négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System aux fins de l'analyse. La prévalence des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec un résultat cytologique d'ASC-US s'élevait respectivement à 9,1 % et 3,8 %. Sur la base des tests réalisés sur le Panther System, les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont présentés dans le Tableau 21 et comparés aux résultats du Aptima HPV Assay et du diagnostic du panel d'examen histologique consensuel.

Tableau 21 : Population ASC-US ≥ 21 ans : Résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay d'après le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du test AHPV-GT*	Interprétation	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
			Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16	1	26	18	11	15	0	71
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45	3	23	16	2	3	1	48
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. autres HPV HR	2	132	70	23	10	0	237
		Total	6	182	104	37	29	1	359
Négatif	Nég. HPV 16/18/45***	Nég. HPV HR	13	450	75	10	4	0	552
		Total	19	632	179	47	33	1^	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; CIN1 = néoplasie cervicale intra-épithéliale de grade 1 ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux (lors du test final ou après la résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).
**19 femmes se sont rendues à la consultation pour la colposcopie, mais un diagnostic n'a pas pu être établi pour les raisons suivantes : < 5 échantillons de biopsie obtenus, tous avec un résultat d'histologie Normal/CIN1 (n=15), aucune biopsie prélevée (n=3) et lames de biopsie perdues (n=1).
***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.
^Une femme a présenté un adenocarcinoma in situ (AIS).

Le risque absolu de maladie (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay sont présentés dans le Tableau 22. Le risque de lésions ≥ CIN2 chez les femmes présentant des types de HPV 16, 18 et/ou 45 était de 28,8 %, par rapport à 14,0 % chez les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV et de 2,6 % chez les femmes ne présentant aucun des types de High-Risk HPV. Le risque absolu est indiqué par tranche d'âge dans le Tableau 23.

Tableau 22 : Population ASC-US ≥ 21 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	**Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45**	**Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45**	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	**Pos. HPV 16 uniquement**	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	**Pos. HPV 18/45 uniquement**	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	**Pos. HPV 16 et 18/45**	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Nég. HPV 16/18/45	**Pos. autres HPV HR**	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos. ou nég.	**Pos. HPV HR**	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Négatif	**Nég. HPV 16/18/45***	**Nég. HPV HR**	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
		Prévalence	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Tableau 23 : Population ASC-US ≥ 21 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay, par tranche d'âge

	Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2 Risque absolu (IC à 95 %)	≥ CIN3 Risque absolu (IC à 95 %)
21 à 29 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
			Prévalence	13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
30 à 39 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
			Prévalence	7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
≥ 40 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
			Prévalence	3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Le risque relatif de maladie d'après les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont présentés dans le Tableau 24. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 11,1 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 22,8 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes ne présentant aucun type de High-Risk HPV. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 2,1 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 4,0 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV.

Tableau 24 : Population ASC-US ≥ 21 ans : Risque relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	**Risque relatif (IC à 95 %)**
Positif au HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à négatif au HPV HR	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à positif aux autres HPV HR	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Positif aux autres HPV HR par rapport à négatif au HPV HR	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
Positif au HPV HR par rapport à négatif au HPV HR	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prévalence	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les rapports de vraisemblance (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, sont indiqués dans le Tableau 25. Les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 4,1 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN2 et 5,2 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN3.

Tableau 25 : Population ASC-US ≥ 21 ans : Rapports de vraisemblance pour les lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	**Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)**
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Positif aux autres HPV HR	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
Négatif au HPV HR	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Population NILM ≥ 30 ans : Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Au total, 512 femmes évaluables âgées de 30 ans ou plus, avec des résultats cytologiques de NILM et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System, avaient des échantillons cytologiques de suivi éligibles pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Parmi celles-ci, 21 femmes (11 femmes ayant subi une colposcopie et 10 n'en ayant pas subi) ne disposaient pas d'un échantillon cytologique de suivi en volume suffisant pour être testé dans cette étude ; après analyse des valeurs manquantes, elles n'ont pas été inclues dans les calculs de performance. Les 491 femmes évaluables avaient des résultats valides avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Parmi celles-ci, 273 ont subi une colposcopie. Quatorze (14) femmes avaient des lésions ≥ CIN2 et 10 avaient des lésions ≥ CIN3 ; 245 femmes avaient un résultat d'histologie Normal/CIN1 ; 14 femmes avaient un état pathologique indéterminé.

Sur les 259 femmes évaluables avec un état pathologique concluant et des résultats positifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System, 65 avaient des résultats positifs avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System, indiquant la présence de HPV 16 et/ou HPV 18/45 ; 194 avaient des résultats négatifs, indiquant la présence d'un ou de plusieurs des autres 11 types de High-Risk HPV. Les résultats de 549 femmes évaluables supplémentaires, âgées de 30 ans ou plus, avec des résultats cytologiques de NILM et un état pathologique concluant, étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay sur le Panther System. Un résultat négatif avec le Aptima HPV Assay indique qu'aucun des 14 types de High-Risk HPV n'est présent dans l'échantillon ; ce dernier est donc désigné comme négatif avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Panther System aux fins de l'analyse. Les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay d'après le résultat du Aptima HPV Assay et le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel sont présentés dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Population NILM ≥ 30 ans : Résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay d'après le diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du test AHPV-GT*	Interprétation	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
			Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16	2	28	0	0	3	1	34
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45	1	28	1	1	0	2	33
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0	1	0	0	0	0	1
	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. autres HPV HR	11	175	12	3	4	0	205
		Total	14	232	13	4	7	3	273
Négatif	Nég. HPV 16/18/45***	Nég. HPV HR	31	527	16	5	1	0	580
		Total	45	759	29	9	8	3^	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).
**45 femmes se sont rendues à la consultation pour la colposcopie, mais un diagnostic n'a pas pu être établi pour les raisons suivantes : un consensus n'a pas pu être obtenu en raison de d'échantillons inadéquats (n=29), d'aucune biopsie prélevée en raison de facteurs sous-jacents (n=13), d'aucune biopsie prélevée ou examinée pour cause d'erreur (n=3).
***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.
^Trois femmes ont présenté un adenocarcinoma in situ (AIS).

Sur les 491 femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay et le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, réalisés tous deux sur le Panther System, 232 avaient un état pathologique non vérifié (incluant les états indéterminés) (Tableau 27). Sur les 10 348 femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay dans le cadre de l'essai CLEAR original, 9 799 avaient un état pathologique non vérifié. La proportion de femmes avec un état pathologique non vérifié était élevée dans ce groupe (96,2 %), car l'étude était conçue de manière à ce que seules des femmes sélectionnées aléatoirement et présentant des résultats négatifs avec le Aptima HPV Assay réalisé sur le Tigris DTS System et avec le test de DNA du HPV soient orientées vers une colposcopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes atteintes de lésions qui aurait été identifié si toutes les femmes avaient subi une colposcopie étant donné les résultats du test. Pour cette méthode, l'état pathologique manquant a été imputé en fonction des résultats du Aptima HPV Assay réalisé sur le Panther System, du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay réalisé sur le Panther System ainsi que du test de DNA du HPV. Cette méthode diffère de celle qui est utilisée pour évaluer le Tigris DTS System, qui imputait les résultats des tests avec le Aptima HPV Assay et le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Tigris DTS System et n'imputait pas les résultats des tests sur le Panther System. Il n'est donc pas valide de comparer les estimations des performances corrigées pour le biais de vérification dans cette section et celles de la section Tigris DTS System. Les estimations des performances corrigées pour le biais de vérification et les estimations des performances non corrigées basées sur les 808 femmes avec un état pathologique vérifié sont présentées.

Tableau 27 : Population NILM ≥ 30 ans : Classification des femmes NILM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV Assay, du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, du test de DNA du HPV, de l'état pathologique (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) et de l'état de vérification de la maladie

Résultat du Aptima HPV Assay*	Résultat du test AHPV-GT*	Test de DNA du HPV	Total femmes	État pathologique vérifié : ≥ CIN2		État pathologique vérifié : ≥ CIN3		État pathologique non vérifié
				Femmes atteintes (≥ CIN2)	Femmes non atteintes (lésions < CIN2)	Femmes atteintes (lésions ≥ CIN3)	Femmes non atteintes (lésions < CIN3)	Femmes avec un statut pathologique inconnu (% inconnu)
Positif	Positif	Positif	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Positif	Négatif	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Positif	Aucun résultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Négatif	Positif	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Négatif	Négatif	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Négatif	Aucun résultat**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
		Total	491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Négatif	S.O.***	Positif	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	S.O.***	Négatif	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2 %)
	S.O.***	Aucun résultat**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
		Total	10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; SO = Sans objet
*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).
**616 femmes disposant de résultats avec le Aptima HPV Assay n'avaient pas de résultat de test de DNA du HPV, principalement en raison d'un volume insuffisant de l'échantillon cytologique.
***Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les risques absolus corrigés de maladie (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay sont présentés dans le Tableau 28a. Le risque de lésions ≥ CIN2 chez les femmes présentant des types de HPV 16, 18 et/ou 45 était de 9,7 %, par rapport à 3,2 % chez les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV et de 0,7 % chez les femmes ne présentant aucun des types de High-Risk HPV. Les risques absolus de maladie non corrigés sont présentés de manière globale dans le Tableau 28b et par tranche d'âge dans le Tableau 29.

Tableau 28a : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations corrigées pour le biais de vérification)

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	8,8 (2,9 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0,0	0,0
	Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
		Prévalence	1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif

*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Remarque : *Les estimations des performances corrigées pour le biais de vérification dans la section Tigris DTS System et la section Panther System utilisent différentes méthodes d'imputation.*

Tableau 28b : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations non corrigées)

Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
		Prévalence	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Tableau 29 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque absolu de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay, par tranche d'âge (estimations non corrigées)

	Résultat du Aptima HPV Assay	Résultat du AHPV-GT Assay	Interprétation	≥ CIN2	≥ CIN3
				Risque absolu (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)
30 à 39 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	HPV 16 et/ou Pos. HPV 18/45	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	S.O. (0/0)	S.O. (0/0)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
			Prévalence	2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 ans	Positif	Pos. HPV 16 et/ou pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et/ou HPV 18/45	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Pos. HPV 16 uniquement	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 18/45 uniquement	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16 et 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		Nég. HPV 16/18/45	Pos. autres HPV HR	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos. ou nég.	Pos. HPV HR	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Négatif	Nég. HPV 16/18/45*	Nég. HPV HR	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
			Prévalence	2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ; HR = haut risque ; SO = Sans objet ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Le risque relatif de maladie d'après les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont présentés dans le Tableau 30 (résultats corrigés pour le biais de vérification) et le Tableau 31 (non corrigés). Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 12,9 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 53,3 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes ne présentant aucun type de High-Risk HPV. Les femmes présentant les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 3,0 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN2 et 4,8 fois plus de probabilité d'avoir une lésion ≥ CIN3 que les femmes présentant un ou plusieurs des 11 autres types de High-Risk HPV.

Tableau 30 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations corrigées pour le biais de vérification)

Interprétation du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à nég. HPV HR	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, > 999)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à pos. autres HPV HR	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Pos. autres HPV HR par rapport à nég. HPV HR	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
Pos. HPV HR par rapport à nég. HPV HR	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prévalence	1,1 %	0,8 %

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Remarque : *Les performances corrigées pour le biais de vérification dans la section Tigris DTS System et la section Panther System utilisent différentes méthodes d'imputation.*

Tableau 31 : Population NILM ≥ 30 ans : Risque relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations non corrigées)

Interprétation du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à nég. HPV HR	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
Pos. HPV 16 et/ou 18/45 par rapport à pos. autres HPV HR	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Pos. autres HPV HR par rapport à nég. HPV HR	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
Pos. HPV HR par rapport à nég. HPV HR	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prévalence	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque ; Nég. = négatif ; Pos. = positif
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Les rapports de vraisemblance (lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3) d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sont indiqués dans le Tableau 32 (résultats corrigés pour le biais de vérification) et dans le Tableau 33 (non corrigés). Les types de HPV 16, 18 et/ou 45 ont montré 11,2 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN2 et 24,1 fois plus de probabilité d'être présents chez une femme avec des lésions ≥ CIN3.

Tableau 32 : Population NILM ≥ 30 ans : Rapports de vraisemblance pour les lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations corrigées pour le biais de vérification)

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Positif aux autres HPV HR	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
Négatif au HPV HR	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

***Remarque :** Les estimations des performances corrigées pour le biais de vérification dans la section Tigris DTS System et la section Panther System utilisent différentes méthodes d'imputation.*

Tableau 33 : Population NILM ≥ 30 ans : Rapports de vraisemblance pour les lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay et du Aptima HPV Assay (estimations non corrigées)

Interprétation des résultats du Aptima Assay*	≥ CIN2	≥ CIN3
	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)	Rapport de vraisemblance (IC à 95 %)
Positif au HPV 16 et/ou 18/45	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Positif aux autres HPV HR	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
Négatif au HPV HR	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

IC = intervalle de confiance ; HR = haut risque
*Les femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV Assay ont été désignées comme négatives avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, aux fins de l'analyse.

Performances cliniques du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay avec les échantillons prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical

Les performances du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ont été évaluées à l'aide d'échantillons prélevés avec le kit CSCT chez des femmes orientées vers une visite de suivi à la suite d'un résultat anormal au test de Pap. Les échantillons ont d'abord été testés avec le Aptima HPV Assay (n=651). Les échantillons dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV Assay (n=414) ont été testés avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sur le Tigris DTS System et le Panther System.

La concordance clinique du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pour la détection du High-Risk HPV de type 16, 18 et 45 sur le Panther System a été déterminée en utilisant les résultats obtenus sur le Tigris DTS System comme méthode de référence. Les concordances positives et négatives en pourcentage ainsi que les intervalles de confiance à 95 % qui y sont associés ont été calculés. Les résultats sont présentés dans le Tableau 34.

		Méthode de référence				
		Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	Total
Résultat du Panther System	Pos. HPV 16, nég. HPV 18/45	194	0	1	3	198
	Nég. HPV 16, pos. HPV 18/45	0	34	0	0	34
	Pos. HPV 16, pos. HPV 18/45	0	0	7	0	7
	Nég. HPV 16, nég. HPV 18/45	1	1	0	173	175
	Total	195	35	8	176	414

Nég. = négatif ; Pos. = positif

Concordance positive : 98,7 % (235/238) (IC à 95 % : 96,4, 99,6)

Concordance négative : 99,0 % (173/176) (IC à 95 % : 95,1, 99,4)

Seuil de détection du seuil clinique

Le seuil de détection (SdD) du seuil clinique est une concentration qui est positive (supérieure au seuil clinique) 95 % du temps. Le SdD du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été déterminé en testant des panels de transcrits *in vitro* (TIV) dilués pour les génotypes 16, 18 et 45. Avant de procéder aux tests, le milieu pour transport d'échantillon a été supplémenté avec le TIV à différentes concentrations, puis dilué avec des d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs individuels. Soixante réplicats de chaque taux de copie ont été testés avec chacun des 2 lots de réactifs pour un total de 120 réplicats. Les tests ont été exécutés sur une période de 6 jours, avec 3 séries réalisées par jour, chaque série comprenant 5 réplicats d'un génotype et d'une concentration donnés. Le seuil de détection à 95 % (Tableau 34) a été calculé par une analyse de régression Probit des résultats de positivité pour chaque panel de dilution.

Tableau 34 : Seuil de détection du seuil clinique pour le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cible	Seuil de détection copies/réaction (IC à 95 %)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)

IC = intervalle de confiance

Précision du test

La précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a été évaluée dans deux études en utilisant le même panel de 24 échantillons. L'étude 1 a été menée dans 3 sites de test externes afin de déterminer la reproductibilité du test. L'étude 2 a été menée en interne afin de déterminer la précision intra-laboratoire. Le panel comprenait 17 échantillons positifs au HPV 16 et/ou 18/45 avec des concentrations égales ou supérieures au seuil de détection du test (positivité attendue : ≥ 95 %), 3 échantillons positifs au HPV 16 et/ou 18/45 avec des concentrations inférieures au seuil de détection du test (positivité attendue : > 0 % à < 25 %), et 4 échantillons négatifs au HPV. Les échantillons du panel positifs au HPV 16 et/ou 18/45 ont été préparés en ajoutant des transcrits *in vitro* ou des cellules de culture infectées par le HPV (SiHa, HeLa et MS751 ; ATCC, Manassas, Virginia, États-Unis) à des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep résiduels dilués avec du STM, ou en diluant des échantillons cliniques de HPV 16, 18 et/ou 45 dans des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep résiduels dilués avec du STM. Les échantillons du panel négatifs au HPV ont été préparés avec des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep ou avec de la solution PreservCyt, dilués avec du STM.

Dans l'étude 1, 2 opérateurs dans chacun des 3 sites de test (1 appareil par site) ont réalisé 2 listes de travail du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay par jour, pendant 3 jours. Les tests ont été réalisés au moyen de 2 lots de réactifs. Chaque liste de travail contenait 3 réplicats de chacun des échantillons du panel de reproductibilité. Cent huit (108) tubes d'échantillon individuel ont été testés pour chaque échantillon du panel (3 sites x 1 appareil x 2 opérateurs x 2 lots x 3 jours x 3 réplicats). Dans l'étude 2, le test a été mené en interne pendant 13 jours, avec un total de 162 réactions testées pour chaque échantillon du panel (1 site x 3 appareils x 3 opérateurs x 3 lots x 2 listes de travail x 3 réplicats).

Les échantillons du panel sont décrits dans le Tableau 35a et le Tableau 36b, accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats attendus respectivement pour le HPV 16 et le HPV 18/45.

Tableau 35a : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay : Description du panel et concordance en pourcentage avec les résultats attendus pour le HPV 16

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Résultat attendu pour le HPV 16	Concordance en pourcentage (IC à 95 %)	
		Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
TIV de HPV 16 (240 copies) Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (260 copies) Fortement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (350 copies) Fortement positif	Négatif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Échantillon clinique 1 HPV 16 Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 18/45 Fortement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellules SiHa (4 cellules) – Fortement positif et cellules HeLa (0,7 cellule) – Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,4 cellule) – Faiblement positif et cellules HeLa (7 cellules) – Fortement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Cellules SiHa (0,4 cellule) Faiblement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Cellules HeLa (0,7 cellules) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (0,2 cellule) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
TIV de HPV 16 (24 copies) Faiblement positif	Positif	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
TIV de HPV 18 (26 copies) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (35 copies) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 HPV 16 Faiblement positif	Positif	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Échantillon clinique 3 HPV 16 Faiblement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Échantillon clinique 2 HPV 18/45 Faiblement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 3 HPV 18/45 Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,001 cellule) Fortement négatif	Négatif	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Cellules HeLa (0,001 cellules) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (0,006 cellule) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 négatif au HPV	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon 1 négatif au HPV préparé avec PreservCyt	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon 2 négatif au HPV préparé avec PreservCyt	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = intervalle de confiance

Remarque : *La concordance en pourcentage a pu être affectée par des variations lors de l'ajout de substances, la dilution et/ou l'aliquotage.*

Tableau 36b : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay : Description du panel et concordance en pourcentage avec les résultats attendus pour le HPV 18/45

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Résultat attendu pour le HPV 18/45	Concordance en pourcentage (IC à 95 %)	
		Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
TIV de HPV 16 (240 copies) Fortement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (260 copies) Fortement positif	Positif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (350 copies) Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 16 Fortement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 HPV 18/45 Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellules SiHa (4 cellules) – Fortement positif et cellules HeLa (0,7 cellule) – Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,4 cellule) – Faiblement positif et cellules HeLa (7 cellules) – Fortement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,4 cellule) Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellules HeLa (0,7 cellules) Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (0,2 cellule) Faiblement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
TIV de HPV 16 (24 copies) Faiblement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (26 copies) Faiblement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (35 copies) Faiblement positif	Positif	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Échantillon clinique 2 HPV 16 Faiblement positif	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 3 HPV 16 Faiblement positif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 HPV 18/45 Faiblement positif	Positif	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Échantillon clinique 3 HPV 18/45 Faiblement positif	Positif	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellules SiHa (0,001 cellule) Fortement négatif	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellules HeLa (0,001 cellules) Fortement négatif	Négatif	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Cellules MS751 (0,006 cellule) Fortement négatif	Négatif	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Échantillon clinique 1 négatif au HPV	Négatif	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 négatif au HPV	Négatif	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon 1 négatif au HPV préparé avec PreservCyt	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon 2 négatif au HPV préparé avec PreservCyt	Négatif	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = intervalle de confiance
***Remarque :** La concordance en pourcentage a pu être affectée par des variations lors de l'ajout de substances, la dilution et/ou l'aliquotage.*

Réactivité croisée

Les tests de substances à réaction-croisée potentielle avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Réactivité croisée* (Tableau 18) dans la section Tigris DTS System pour voir les résultats.

Interférence

Les tests de substances potentiellement interférentes avec le Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Interférence* (Tableau 19) dans la section Tigris DTS System pour voir les résultats.

Bibliographie

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.**1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. Int J Cancer. 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? Int J Cancer. 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clin Sci (Lond). 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. Clin Microbiol Rev. 16(1):1-17
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. BMJ. 325(7364): 572-579.
8. **Monsonego J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. Int J Cancer. 108(3):329-33. Erratum in: Int J Cancer. 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. J. Med. Virol. 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. The Lancet. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. J. Nat. Cancer institute. 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. Cancer Res. 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. J. Natl. Cancer Inst. 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** 2009. HPV Genotyping Clinical Update. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. Journal of Lower Genital Tract Disease. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. Clin Chem. 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. Biochem. 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. Annals Int Med. **148**:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** 2005. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. The Lancet. **366**, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 208(2):144-145.

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA

Service clients :	+1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
	customersupport@hologic.com
Service technique :	+1 888 484 4747
	molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site www.hologic.com.

Ce produit est destiné à être utilisé uniquement pour des diagnostics *in vitro* humains.

AW-11244-901 Rev. 002 (FR)

2015-02